

FERTILITAS SEMEN BEKU HASIL EJAKULASI DAN SPERMATOZOA BEKU ASAL CAUDA EPIDIDIMIS DOMBA GARUT

FERTILITY OF FROZEN-THAWED SEMEN FROM EJACULATION AND FROZEN-THAWED SPERMATOZOA FROM CAUDA EPIDIDYMIS OF GARUT RAM

Muhammad Rizal

Jurusan Peternakan, Fakultas Pertanian, Universitas Pattimura, Jl. Ir. M. Putuhena, Kampus Poka, Ambon 97233
e-mail: icang65@yahoo.com

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji dan membandingkan kualitas dan fertilitas antara semen beku hasil ejakulasi (SHE) dan spermatozoa beku asal *cauda epididymis* (SCE) domba Garut melalui inseminasi buatan (IB). Semen diencerkan dengan modifikasi pengencer Tris yang mengandung 5% gliserol dan 20% kuning telur. Semen dikemas di dalam *straw* mini (0,25 ml) dengan konsentrasi 200 juta spermatozoa motil. Semen diekuilibrasikan pada suhu 5°C selama tiga jam, kemudian dibekukan dan disimpan di dalam kontainer nitrogen cair selama tujuh hari. Kualitas semen meliputi persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, tudung akrosom utuh (TAU), dan membran plasma utuh (MPU) dievaluasi masing-masing setelah tahap pengenceran, ekuilibrasikan, dan *thawing*. Sebelum IB, betina-betina diserentakkan estrusnya dengan cara mengimplan CIDR-G® di dalam vagina selama 13 hari. Inseminasi secara *intracervical* dilakukan 53 jam setelah pencabutan implan CIDR-G® dan diulangi tujuh jam kemudian, masing-masing dengan satu dosis (satu *straw*). Kebuntingan didiagnosis dengan ultrasonografi (USG) 35, 83, dan 120 hari setelah IB. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas spermatozoa SHE lebih baik daripada SCE. Persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, TAU, dan MPU setelah *thawing* perlakuan SHE (52,78%, 58,78%, 54,22%, dan 56,22%) nyata ($P<0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan SCE (45,00%, 54,50%, 47,83%, dan 48,83%). Persentase kebuntingan dan kelahiran perlakuan SHE (58,33% dan 58,33%) nyata ($P<0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan SCE (44,44% dan 33,33%). Dapat disimpulkan bahwa semen beku hasil ejakulasi dan spermatozoa beku asal *cauda epididymis* domba garut dapat digunakan dalam program IB secara *intracervical* dan menghasilkan angka kebuntingan yang cukup tinggi.

Kata kunci: fertilitas, semen beku, spermatozoa beku asal *cauda epididymis*, IB, domba Garut.

ABSTRACT

The purpose of this research was to examine and to compare the quality and fertility between frozen semen from ejaculation (SHE) and frozen spermatozoa from cauda epididymis (SCE) of Garut ram by artificial insemination (AI). Semen was diluted with modified Tris extender containing 5% glycerol and 20% egg yolk. Semen was loaded in 0.25 ml mini straw with the concentration of 200 million motile spermatozoa. Semen was equilibrated at 5°C for three hours, then frozen and stored in liquid nitrogen container for seven days. Quality of processed-semen including percentages of motile spermatozoa, live spermatozoa, intact acrosome cap (IAC), and intact plasma membrane (IPM) were evaluated after diluting, equilibrating and thawing, respectively. Before insemination, estrus of ewes were synchronized using intravaginal administration of CIDR-G® for 13 days. Artificial insemination by *intracervical* was carried out 53 hours after withdrawal of CIDR-G® and repeated seven hours later with one dose, respectively. Pregnancy was determined with ultrasonography (USG) at 35, 83, and 120 days after insemination. Results of this research showed that spermatozoa quality of SHE better than SCE. Percentages of post thawing motile spermatozoa, live spermatozoa, IAC, and IPM for SHE (52.78%, 58.78%, 54.22%, and 56.22%) were significantly ($P<0.05$) higher than SCE (45.00%, 54.50%, 47.83%, and 48.83%). Pregnancy and lambing rate for SHE (58.33% and 58.33%) was significantly ($P<0.05$) higher than SCE (44.44% and 33.33%). In conclusion, frozen semen from ejaculation and frozen spermatozoa from cauda epididymis of garut ram are suitable for use in artificial insemination by *intracervical* method.

Key words: fertility, frozen semen, frozen spermatozoa from cauda epididymis, AI, Garut ram.

PENDAHULUAN

Kualitas semen, kondisi betina, dan keterampilan inseminator merupakan faktor utama yang menentukan tingkat keberhasilan IB. Khusus pada ternak ruminansia kecil seperti domba, terdapat faktor pembatas lainnya yang tidak dijumpai pada ternak ruminansia besar seperti sapi. Faktor pembatas yang dimaksud adalah kesulitan mendeposisikan semen sejauh mungkin melewati *cervix*, sehingga menjadi kendala berkembangnya penerapan teknologi IB pada ternak domba secara luas. Menurut Fukui *et al.* (1994) angka kebuntingan hasil IB pada ternak ruminansia kecil dapat ditingkatkan dengan pendeposisian semen secara *intrauterine* melalui teknik pembedahan atau dengan laparoskopi, akan tetapi metode ini tidak aplikatif diterapkan secara luas pada tingkat lapang. Merujuk pada kendala-kendala tersebut di atas, untuk meningkatkan angka kebuntingan pada domba, mungkin dapat dilakukan dengan memperbaiki kualitas semen (cair dan beku), meningkatkan konsentrasi spermatozoa yang diinseminasikan, dan melakukan inseminasi tepat waktu.

Hingga saat ini penerapan teknologi IB pada ternak umumnya menggunakan spermatozoa hasil koleksi dalam bentuk semen cair dan semen beku yang diolah dari semen hasil ejakulasi. Sumber alternatif spermatozoa yang lain seperti epididimis ternak atau hewan yang telah disembelih belum banyak mendapat perhatian, sehingga sering terbuang begitu saja. Padahal spermatozoa yang berasal dari bagian *cauda* epididimis telah memiliki kemampuan membuahi oosit yang sama baiknya dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Hafez dan Hafez, 2000). Hal ini karena spermatozoa yang terdapat di bagian *cauda* telah melewati proses pematangan di bagian *caput* dan *corpus* epididimis, serta sudah memiliki kemampuan bergerak (motil) yang sama dengan spermatozoa hasil ejakulasi (Axner *et al.*, 1999). Metode ini akan sangat membantu dalam upaya mengoptimalkan potensi genetik ternak atau hewan jantan unggul yang

mengalami masalah dalam melakukan ejakulasi secara alamiah, serta tidak memberikan respons terhadap upaya koleksi semen menggunakan alat bantu. Koleksi spermatozoa dapat dilakukan dengan cara aspirasi menggunakan spuit jarum suntik langsung dari bagian *cauda* epididimis ternak atau hewan hidup, atau dari *cauda* epididimis hewan mati. Teknologi ini juga dapat membantu dalam upaya menyelamatkan plasma nutfah ternak atau hewan jantan yang mati secara mendadak, serta terhadap hewan-hewan langka yang sedang ditangkarkan tetapi tidak dapat kawin secara normal karena kondisi tempat penangkaran yang tidak sesuai dengan kondisi habitat aslinya.

Pemanfaatan spermatozoa asal *cauda* epididimis yang telah diproses menjadi semen beku telah dilaporkan pada beberapa hewan dan ternak oleh beberapa peneliti. Tollner *et al.* (1990) dan Sankai *et al.* (1994) berhasil menumbuhkan embrio monyet ekor panjang serta Kikuchi *et al.* (1998) pada embrio babi hingga tahap blastosis dari oosit yang difertilisasi oleh spermatozoa beku asal *cauda* epididimis teknik fertilisasi *in vitro* (FIV). Bravo *et al.* (2000) melaporkan angka kebuntingan sebesar 37,50% pada llama dan alpaca yang diinseminasi dengan spermatozoa beku asal *cauda* epididimis.

Pada penelitian ini dicoba membandingkan kualitas spermatozoa dan tingkat keberhasilan kebuntingan melalui IB secara *intracervical* antara semen hasil ejakulasi dan spermatozoa beku asal *cauda* epididimis domba garut.

MATERI DAN METODE

Semen dikoleksi menggunakan vagina buatan (Toelihere, 1993) satu kali dalam satu minggu dari tiga ekor domba garut jantan yang berumur sekitar empat tahun dan berat badan rata-rata 83 kg. Penampungan semen dilakukan sebanyak enam kali sebagai jumlah ulangan. Semen yang diperoleh diencerkan dengan modifikasi pengencer Tris.

Spermatozoa dikoleksi dari enam buah epididimis domba garut yang telah disembelih dan diperoleh dari rumah pemotongan hewan (RPH) tradisional. Spermatozoa dikoleksi dengan cara membuat sayatan-sayatan pada *cauda* epididimis menggunakan gunting *stainless steel* steril, kemudian dibilas-tekan dengan larutan modifikasi pengencer Tris tanpa gliserol sebanyak 2 ml (Rizal, 2004). Spermatozoa hasil koleksi disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit pada suhu kamar dan supernatan dibuang. Pellet (spermatozoa) diencerkan kembali dengan modifikasi pengencer Tris yang mengandung gliserol.

Pengencer dasar Tris terdiri atas 3,32 g Tris(hidoksimetil)aminometan, 1,86 g asam sitrat, dan 1,37 g fruktosa yang dilarutkan dengan akuabidestilata steril hingga mencapai volume 100 ml, kemudian ditambahkan penisilin 1.000 IU/ml dan streptomisin 1.000 µg/ml. Komposisi modifikasi pengencer Tris adalah 75% pengencer dasar Tris, 5% gliserol, dan 20% kuning telur ayam ras, kemudian ditambahkan 60 mM (2,16%) laktosa dan 0,05% glutation (Rizal *et al.*, 2002).

Semen yang telah diencerkan dievaluasi kualitasnya, kemudian dikemas di dalam *straw* mini (0,25 ml) dengan konsentrasi 200 juta spermatozoa motil per *straw* (Gil *et al.*, 2002). Selanjutnya semen yang telah dikemas tersebut diekuilibrasi di dalam lemari es pada suhu 5°C selama tiga jam. Setelah ekuilibrasi, setiap sampel semen masing-masing perlakuan dievaluasi kualitasnya.

Pembekuan semen dilakukan dengan cara meletakkan *straw* 10 cm di atas permukaan nitrogen cair di dalam *styrofoam* yang ditutup rapat (suhu sekitar -130°C) selama 15 menit (Rizal, 2004). Selanjutnya *straw* dimasukkan ke dalam nitrogen cair (suhu sekitar -196°C) dan disimpan di dalam kontainer nitrogen cair. Setelah disimpan selama tujuh hari, setiap sampel *straw* masing-masing perlakuan dicairkan kembali (*thawing*) untuk dievaluasi kualitasnya. Semen beku dicairkan kembali dengan cara memasukkan *straw* ke dalam air bersuhu 37°C selama 30 detik.

Uji fertilitas semen beku dilakukan terhadap 12 ekor domba garut betina dewasa untuk perlakuan semen beku hasil ejakulasi (SHE) dan sembilan ekor untuk perlakuan spermatozoa beku asal *cauda* epididimis (SCE). Seluruh betina diserentakkan estrusnya dengan cara mengimplan CIDR-G® (Eazi-Breed, New Zealand) di dalam vagina selama 13 hari. Inseminasi buatan secara *intracervical* (deposisi semen di dalam lumen cervix sejauh sekitar 1,5 cm) menurut metode Gil *et al.* (2002) dilakukan 53 jam setelah pencabutan CIDR-G® dan diulangi tujuh jam kemudian, masing-masing dengan satu dosis (satu *straw*). Kebuntingan didiagnosis menggunakan ultrasonografi (USG) (tipe Aloka SSD-500, USA) pada hari ke-35, 83, dan 120 setelah IB.

Variabel yang dievaluasi meliputi kualitas spermatozoa yang terdiri atas: persentase spermatozoa motil, persentase spermatozoa hidup, persentase tudung akrosom utuh (TAU), dan persentase membran plasma utuh (MPU) masing-masing setelah tahap pengenceran, ekuilibrasi, dan *thawing*; serta fertilitas semen beku (persentase kebuntingan dan kelahiran).

Persentase spermatozoa motil: persentase spermatozoa yang bergerak progresif (bergerak ke depan). Ditentukan secara subjektif pada delapan lapang pandang yang berbeda dengan mikroskop cahaya pembesaran 400x (Toelihere, 1993). Angka yang diberikan berkisar antara 0% dan 100% dengan skala 5%.

Persentase spermatozoa hidup: persentase spermatozoa yang hidup. Ditentukan dengan pewarnaan 2% eosin B (Toelihere, 1993). Spermatozoa yang hidup ditandai oleh kepala berwarna putih, sedangkan yang mati ditandai oleh kepala berwarna merah. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 10 x 40.

Persentase TAU spermatozoa: persentase spermatozoa yang memiliki tudung akrosom utuh. Tudung akrosom utuh ditandai oleh ujung kepala spermatozoa yang berwarna hitam tebal, apabila semen dipaparkan di dalam larutan NaCl fisiologik yang mengandung 1% formalin (Saacke dan White, 1972). Sebanyak

Tabel 1. Persentase spermatozoa motil, spermatozoa hidup, TAU, dan MPU spermatozoa ejakulat dan spermatozoa asal *cauda* epididimis domba garut setelah proses pengolahan

Variabel kualitas spermatozoa	Tahap pengolahan semen	Perlakuan jenis spermatozoa	
		Ejakulat (SHE)	Epididimis (SCE)
Spermatozoa motil (%)	Pengenceran	76,67 ± 2,36 ^b	70,83 ± 1,86 ^a
	Ekuilibrasi	70,00 ± 4,08 ^b	58,33 ± 2,36 ^a
	<i>Thawing</i>	52,78 ± 2,48 ^b	45,00 ± 4,08 ^a
Spermatozoa hidup (%)	Pengenceran	82,89 ± 3,35 ^a	82,83 ± 1,57 ^a
	Ekuilibrasi	77,00 ± 2,98 ^b	70,50 ± 2,87 ^a
	<i>Thawing</i>	58,78 ± 1,47 ^b	54,50 ± 2,14 ^a
TAU (%)	Pengenceran	84,78 ± 1,87 ^a	85,83 ± 1,34 ^a
	Ekuilibrasi	74,67 ± 1,63 ^b	67,17 ± 1,77 ^a
	<i>Thawing</i>	54,22 ± 2,39 ^b	47,83 ± 2,27 ^a
MPU (%)	Pengenceran	83,55 ± 1,83 ^a	81,33 ± 1,10 ^a
	Ekuilibrasi	74,44 ± 2,31 ^b	68,33 ± 1,50 ^a
	<i>Thawing</i>	56,22 ± 1,81 ^b	48,83 ± 2,19 ^a

^{a,b} Superskrip dalam baris yang sama, menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 10 x 40.

Persentase MPU spermatozoa: persentase spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh. Dievaluasi dengan metode *osmotic resistance test* (ORT) atau *hypoosmotic swelling* (HOS) test (Revell dan Mrode, 1994). Spermatozoa yang memiliki membran plasma utuh ditandai oleh ekor melingkar atau menggelembung, sedangkan yang rusak ditandai oleh ekor lurus, apabila semen dipaparkan di dalam larutan hipoosmotik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 60 menit. Sebanyak minimum 200 spermatozoa dievaluasi dengan mikroskop cahaya pembesaran 10 x 40.

Data yang diperoleh dianalisis dengan uji t (Steel dan Torrie, 1993).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kualitas Spermatozoa setelah Dibekukan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kualitas setelah *thawing* spermatozoa hasil ejakulasi dan spermatozoa asal *cauda*

epididimis memenuhi syarat untuk digunakan IB. Nilai semua variabel kualitas spermatozoa yang dievaluasi menunjukkan bahwa spermatozoa ejakulat nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa asal *cauda* epididimis, baik pada tahap setelah ekuilibrasi maupun setelah *thawing* (Tabel 1). Semen beku yang layak digunakan dalam program IB harus memiliki persentase spermatozoa motil paling sedikit 40% (Toelihere, 1993) dan persentase TAU lebih dari 30% (Evans dan Maxwell, 1987).

Kualitas spermatozoa asal *cauda* epididimis yang telah dibekukan lebih rendah dibandingkan dengan spermatozoa hasil ejakulasi. Fenomena rendahnya kualitas spermatozoa yang dikoleksi dari *cauda* epididimis dan telah dibekukan dibandingkan dengan spermatozoa hasil ejakulasi juga dilaporkan Garde *et al.* (2000) bahwa persentase spermatozoa motil dan akrosom utuh spermatozoa beku hasil ejakulasi rusa merah iberian masing-masing sebesar 51,70% dan 50%. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa beku asal *cauda*

Tabel 2. Persentase kebuntingan dan kelahiran hasil IB menggunakan semen beku

Sumber spermatozoa	Kebuntingan (%)	Kelahiran (%)	Jumlah anak yang lahir (ekor)		
			Tunggal	Kembar dua	Total
Ejakulat (SHE)	7/12 (58,33) ^b	7/12 (58,33) ^b	5	2	9
Epididimis (SCE)	4/9 (44,44) ^a	3/9 (33,33) ^a	3	–	3

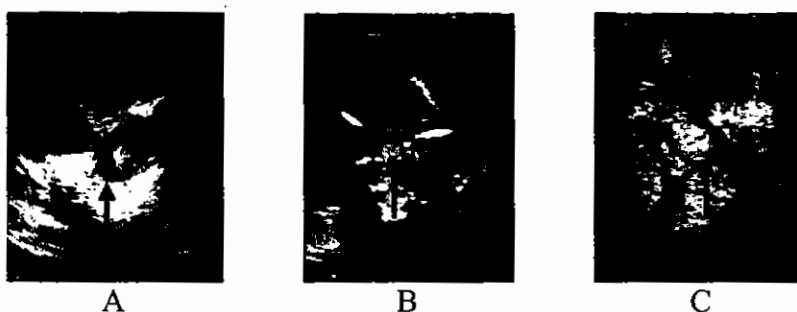
^{a,b} Superskrip dalam kolom yang sama, menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

epididimis yang masing-masing sebesar 45% dan 49%. Hasil serupa juga dilaporkan Squires *et al.* (2000) bahwa persentase spermatozoa motil semen kuda setelah *thawing* adalah 23% untuk semen hasil ejakulasi dan hanya 5% untuk spermatozoa asal *cauda* epididimis.

Rendahnya kualitas spermatozoa asal *cauda* epididimis setelah pengolahan diduga karena tidak seperti pada spermatozoa hasil ejakulasi, spermatozoa asal *cauda* epididimis tidak terpapar di dalam plasma semen. Plasma semen penting karena di dalamnya terkandung berbagai senyawa dan makromolekul yang berfungsi menunjang kelangsungan hidup spermatozoa (Senger, 1999). Selanjutnya dinyatakan bahwa salah satu makromolekul yang penting adalah glikoprotein yang disintesis oleh kelenjar vesikularis, dan disekresikan ke dalam plasma semen. Glikoprotein ini berperan melindungi membran plasma sel spermatozoa dari kerusakan akibat pengaruh kejutan dingin saat spermatozoa dikoleksi dan selama proses pengolahan. Ini menyebabkan lebih rendahnya daya hidup

spermatozoa asal *cauda* epididimis dan meningkatnya jumlah spermatozoa yang mengalami reaksi akrosom prematur akibat rusaknya membran plasma sel (Garde *et al.*, 2000).

Menurut Nolan dan Hammerstedt (1997) seiring dengan proses pematangan spermatozoa di dalam *caput* dan *corpus* epididimis, juga terjadi perubahan komposisi senyawa kimia yang menyusun membran plasma sel. Membran plasma sel kehilangan sebagian kolesterol, sehingga nisbah antara asam lemak tak jenuh dan kolesterol meningkat. Hal ini menyebabkan membran plasma sel menjadi kurang stabil, karena permeabilitas meningkat. Kondisi membran plasma sel seperti ini secara fisiologik memang dibutuhkan spermatozoa untuk memudahkan terjadinya proses reaksi akrosom saat fertilisasi. Kondisi ini juga akan memudahkan terjadinya fusi antara membran plasma sel spermatozoa dan membran plasma sel oosit saat fertilisasi berlangsung. Gilbert (1988), Johnson dan Everitt (1995), Nolan dan Hammerstedt (1997)



Gambar 1. Embrio (bulatan putih, tanda panah) umur 35 hari (A), fetus umur 120 hari (B), dan karunkul umur kebuntingan 83 hari (C).

menyatakan untuk mencegah terjadinya reaksi akrosom prematur, membran plasma sel spermatozoa diproteksi oleh senyawa inhibitor berupa glikoprotein yang disintesis oleh kelenjar vesikularis dan disekresikan ke dalam plasma semen.

Persentase spermatozoa motil setelah *thawing* yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada yang dilaporkan Graham (1994) bahwa persentase spermatozoa motil semen beku domba suffolk dan dorset adalah 27%, sedangkan spermatozoa beku asal *cauda epididimis* sebesar 34%.

Persentase Kebuntingan dan Kelahiran

Hasil diagnosis kebuntingan menggunakan USG (Gambar 1) diperoleh persentase kebuntingan perlakuan SHE (58,33%) nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan SCE (44,44%) (Tabel 2). Hasil yang diperoleh pada perlakuan SHE sama dengan yang dilaporkan oleh peneliti lain (Hunton *et al.*, 1987; Wuwuh, 1990; Feradis, 1999; McPhie *et al.*, 2000).

Angka kebuntingan yang diperoleh pada perlakuan semen beku hasil ejakulasi lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Gil *et al.* (2002) bahwa angka kebuntingan pada domba corriedale yang diinseminasi dengan semen beku yang diencerkan dengan pengencer susu skim adalah 30,80% dan 28,50% masing-masing pada pemeriksaan hari ke-21 dan 36 setelah IB. Gil *et al.* (2003) juga melaporkan angka kebuntingan yang lebih rendah pada domba corriedale yang diinseminasi dengan semen

beku yang diencerkan dengan pengencer komersial Bioexcell[®] yakni sebesar 35,90%, 34,80%, dan 28,40% masing-masing pada pemeriksaan hari ke-21, 36, dan 50 menggunakan USG.

Akan tetapi, hasil yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan Fukui *et al.* (1994) bahwa angka kebuntingan pada domba suffolk yang diinseminasi dengan semen beku adalah sebesar 91,20% dan 85,30% masing-masing pada pemeriksaan hari ke-21 dan hari ke-61 menggunakan USG. Hasil yang dilaporkan Fukui *et al.* (1994) lebih tinggi diduga karena perbedaan metode IB yang digunakan. Fukui *et al.* (1994) menggunakan metode *intrauterine* (deposisi semen pada tanduk uterus) dengan bantuan laparoskopi, sedangkan penelitian ini menggunakan metode deposisi semen secara *intracervical*. Metode IB dengan deposisi semen di tanduk uterus akan lebih memudahkan spermatozoa mencapai tempat fertilisasi, sehingga lebih banyak spermatozoa dalam kondisi yang lebih baik (segar) yang mencapai tempat fertilisasi dibandingkan dengan metode IB *intracervical*. Hal ini karena pada metode *intracervical*, spermatozoa akan mengalami seleksi yang sangat ketat di dalam lumen *cervix*, sehingga hanya sedikit spermatozoa yang dapat mencapai daerah tempat fertilisasi.

Persentase kelahiran tertinggi dicapai oleh perlakuan SHE yakni sebesar 58,33% (tujuh ekor melahirkan dari 12 ekor yang diinseminasi). Jumlah anak yang dilahirkan ketujuh ekor induk ini sebanyak sembilan ekor (lima ekor induk melahirkan anak tunggal dan



A



B

Gambar 2. Anak domba hasil IB dengan semen beku (SHE) (A) dan hasil IB dengan spermatozoa beku asal *cauda epididimis* (SCE) (B).

dua ekor induk melahirkan anak kembar dua), terdiri atas enam ekor jantan dan tiga ekor betina (Gambar 2). Hasil persentase kelahiran yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Gil *et al.* (2002) bahwa angka kelahiran pada domba *corriedale* sebesar 21,90%. Akan tetapi, lebih rendah dibandingkan dengan yang dilaporkan Fukui *et al.* (1994) bahwa angka kelahiran pada domba *suffolk* sebesar 85,30%. Hasil yang diperoleh Fukui *et al.* (1994) lebih tinggi diduga karena IB dilakukan dengan metode *intrauterine*.

Persentase kebuntingan yang dicapai oleh spermatozoa beku asal *cauda epididimis* (perlakuan SCE) adalah sebesar 44,44% hingga umur kebuntingan 120 hari. Selama periode akhir kebuntingan, terjadi keguguran pada satu ekor induk, sehingga hanya tiga ekor induk (33,33%) yang berhasil melahirkan anak dengan selamat. Jumlah anak yang dilahirkan ketiga induk tersebut sebanyak tiga ekor (semua induk melahirkan anak tunggal), terdiri atas satu ekor jantan dan dua ekor betina (Gambar 2). Hasil yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilaporkan Bravo *et al.* (2000) bahwa persentase kebuntingan hewan llama dan alpaca yang diinseminasi dengan spermatozoa beku asal *cauda epididimis* adalah sebesar 37,50% pada pemeriksaan kebuntingan hari ke-21 setelah IB melalui pengamatan siklus estrus. Perbedaan ini diduga karena perbedaan jenis hewan dan kondisi percobaan.

Perlakuan SHE menghasilkan angka kebuntingan dan kelahiran yang lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan SCE karena kualitas semen beku SHE lebih baik daripada SCE. Perbedaan kualitas semen beku ini akan berakibat pada perbedaan kemampuan spermatozoa melewati seleksi ketat dan perjalanan panjang saat semen dideposisikan di dalam lumen *cervix* saat IB, yang hanya dapat ditembus oleh *insemination gun* sejauh 1,5 cm, sedangkan *cervix* domba garut sepanjang lebih dari 5 cm. Hal ini juga mengakibatkan terjadi perbedaan kemampuan spermatozoa dalam upaya menembus *barier* oosit selama proses fertilisasi berlangsung, dan juga mungkin terdapat perbedaan kualitas spermatozoa secara

mikro yang tidak dapat diamati hanya dengan mikroskop cahaya. Motilitas (daya gerak) dan tudung akrosom utuh merupakan variabel kualitas spermatozoa yang memegang peranan sentral dalam menentukan keberhasilan proses fertilisasi. Motilitas dibutuhkan spermatozoa sebagai sarana dalam upaya mencapai daerah tempat terjadinya fertilisasi dari tempat pendeposisian pada saat inseminasi, dan dalam upaya penembusan *barier* pelindung oosit, khususnya *cumulus oophorus* (Senger, 1999). Sedangkan tudung akrosom yang utuh sangat penting karena di dalamnya terdapat enzim-enzim lisis (akrosin atau zona lisin) yang dikeluarkan saat reaksi akrosom berlangsung (Johnson dan Everitt, 1995). Selanjutnya dinyatakan bahwa enzim-enzim tersebut berfungsi melisis bagian tertentu zona pellucida (tempat spermatozoa terikat dan berlangsungnya reaksi akrosom), yang akan menjadi tempat masuknya spermatozoa ke dalam sitoplasma oosit untuk kemudian membentuk pronukleus jantan, serta dilanjutkan dengan terjadinya singami dan terbentuknya embrio.

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa kualitas spermatozoa semen beku hasil ejakulasi lebih baik dibandingkan dengan spermatozoa beku asal *cauda epididimis* domba garut. Persentase kebuntingan dan kelahiran yang dihasilkan melalui IB secara *intracervical* menggunakan semen beku hasil ejakulasi lebih tinggi dibandingkan dengan spermatozoa beku asal *cauda epididimis* domba garut. Spermatozoa beku asal *cauda epididimis* domba garut layak digunakan dalam program IB, serta menghasilkan angka kebuntingan dan kelahiran yang cukup tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi (BPPT), Jakarta dan peternakan domba laga "Lesan Putra" PT Sarbi Moerhani Lestari, Ciomas, Bogor atas dukungan dana, hewan percobaan, dan fasilitas pendukung lainnya

sehingga penelitian ini dapat berlangsung dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Axner, E., Forsberg, C.L., and Einarsson, S. 1999. Morphology and motility of spermatozoa from different region of the epididymal duct in the domestic cat. *Theriogenology* 45: 767-777.
- Bravo, P.W., Alarcon, V., and Bondurant, R.H. 2000. *Epididymal spermatozoa characteristics and its use on artificial insemination of llamas and alpacas*. Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. 15: 18, p.92. Abstract Vol. 2.
- Evans, G., and Maxwell, W.M.C. 1987. *Salamon's Artificial Insemination of Sheep and Goats*. Butterworths, London.
- Feradis. 1999. *Penggunaan Antioksidan dalam Pengencer Semen Beku dan Metode Sinkronisasi Estrus pada Program Inseminasi Buatan pada Domba St. Croix*. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Fukui, Y., Tabuchi, K., Yamada, A., Hayashi, N., and Tanaka, K. 1994. Effect of insertion periods of controlled internal drug release device (CIDR®) on conception rate by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anestrous ewes. *J. Reprod. Dev.* 40: 221-226.
- Garde, J., Anel, E., Garcia-Diaz, A., Boixo, J.C., Soler, A., de Paz, P., Lopez-Saez, A., Guerra, C., and Anel, L. 2000. *Evaluation of two glycerol concentrations in freezing of electroejaculated and epididymal spermatozoa from Iberian red deer (Cervus elaphus hispanicus)*. Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction, Stockholm, 2-6 July 2000. 17: 14, P.142. Abstract Vol. 2.
- Gil, J., Rodriguez-Irazaqui, M., Soderquist, L., and Rodriguez-Martinez, H. 2002. Influence of centrifugation or low extension rate prefreezing on the fertility of ram semen after cervical insemination. *Theriogenology* 57: 1781-1792.
- Gil, J., Rodriguez-Irazaqui, M., Lundeheim, N., Soderquist, L., and Rodriguez-Martinez, H. 2003. Fertility of ram semen frozen in Bioexcell® and used for cervical insemination. *Theriogenology* 59: 1157-1170.
- Gilbert, S.F. 1988. *Developmental Biology*, 2nd ed. Sinauer Associates, Inc Publishers, Massachusetts.
- Graham, J.K. 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during the cryopreservation process. *Theriogenology* 41: 1151-1162.
- Hafez, E.S.E. and Hafez, B. 2000. *Reproduction in Farm Animals*, 7th ed. Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore.
- Hunter, R.H.F. 1985. Experimental studies of sperm transport in sheep, cows, and pigs. *Vet. Rec.* 116: 188.
- Hunton, J.R., Flecker, S.E., and Maxwell, W.M.C. 1987. Pregnancy rates following intrauterine insemination with pellet or straw-frozen ram semen. *J. Agric. Sci.* 109: 189-191.

- Johnson, M.H. and Everitt, B.J. 1995. *Essential Reproduction*, 4th ed. Blackwell Science, Oxford.
- Kikuchi, K., Nagai, T., Kashiwazaki, N., Ikeda, H., Noguchi, J., Shimada, A., Soloy, E., and Kaneko, H. 1998. Cryopreservation and ensuing *in vitro* fertilization ability of boar spermatozoa from epididymides stored at 4 °C. *Theriogenology* 50: 615-623.
- McPhie, C.A., Evans, G., and Maxwell, W.M.C. 2000. *Effect of supplementation of fresh and frozen-thawed semen with seminal plasma on fertility of ewes after cervical and intrauterine insemination*. Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. 15: 4, p.78. Abstract Vol. 2.
- Nolan, J.P. and Hammerstedt, R.H. 1997. Regulation of membrane stability and the acrosome reaction in mammalian sperm. *FASEB J.* 11: 670-682.
- Revell, S.G. and Mrode, R.A. 1994. An osmotic resistance test for bovine semen. *Anim. Reprod. Sci.* 36: 77-86.
- Rizal, M. 2004. Penyimpanan epididimis pada suhu 5°C selama tiga hari: Pengaruhnya terhadap kualitas spermatozoa yang telah dibekukan. *Media Kedokteran Hewan* 20: 57-61.
- Rizal, M., Toelihere, M.R., Yusuf, T.L., Purwantara, B., dan Situmorang, P. 2002. Efektivitas berbagai konsentrasi glutation terhadap kualitas semen yang telah dibekukan pada domba Garut. *J. Biosains.* 7: 22-28.
- Saacke, R.G. and White, J.M. 1972. *Semen quality tests and their relationship to fertility*. Proocedings 4th Tech. Conf. on AI and Reprod. NAAB. p. 22-27.
- Sankai, T., Terao, K., Yanagimachi, R., Cho, F., and Yoshikawa, Y. 1994. Cryopreservation of spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 101: 273-278.
- Senger, P.L. 1999. *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Current Conceptions, Inc., Pullman.
- Squires, E.L., Gomez-Cuetara, C., and Graham, J.K. 2000. *Effect of seminal plasma on cryopreserving epididymal and ejaculated stallion spermatozoa*. Proceedings 14th International Congress on Animal Reproduction. Stockholm, 2-6 July 2000. 17: 38, p.166. Abstract Vol. 2.
- Steel, R.G.D. and Torrie, J.H. 1993. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Terjemahan Sumantri, B. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Toelihere, M.R. 1993. *Inseminasi Buatan pada Ternak*. Angkasa, Bandung.
- Tollner, T.L., van de Voort, C.A., Overstreet, J.W., and Drobniz, E.Z. 1990. Cryopreservation of spermatozoa from cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Reprod. Fertil.* 90: 347-352.
- Wuwuh, M.I.S. 1990. *Telaah Kualitas Semen Domba Priangan dan Silangan Suffolk-Priangan serta Upaya Inseminasi Buatan dan Superovulasi*. Disertasi. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.